

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
1. Februar 2001 (01.02.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 01/07647 A2

- (51) Internationale Patentklassifikation⁷: C12Q 1/68 (81) Bestimmungsstaaten (*national*): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE00/02490
- (22) Internationales Anmeldedatum:
25. Juli 2000 (25.07.2000)
- (25) Einreichungssprache: Deutsch
- (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch
- (30) Angaben zur Priorität:
199 35 772.2 26. Juli 1999 (26.07.1999) DE
- (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): EPIGENOMICS AG [DE/DE]; Kastanienallee 24, D-10435 Berlin (DE).
- (72) Erfinder; und
- (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): BERLIN, Kurt [DE/DE]; Marienkäferweg 4, D-14532 Stahnsdorf (DE).
- (74) Anwalt: SCHUBERT, Klemens; Joachimstrasse 9, D-10119 Berlin (DE).
- (84) Bestimmungsstaaten (*regional*): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: METHOD FOR RELATIVE QUANTIZATION OF METHYLATION OF CYTOSIN-TYPE BASES IN DNA SAMPLES

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUR RELATIVEN QUANTIFIZIERUNG DER METHYLIERUNG VON CYTOSIN BASEN IN DNA-PROBEN

(57) Abstract: The invention concerns a method for relative quantization of methylation of cytosin-type bases in DNA samples, comprising the following steps: a) chemically reacting a genomic DNA sample with a reagent, 5-methylcytosin and cytosin reacting differently, thereby showing, after the reaction, different base-pairing behaviour in the DNA double helix; b) amplifying the DNA sample, a process during which a fluorescence-marked dCTP derivative is added; c) hybridizing the amplified DNA sample on at least an immobilised oligomer, the immobilised oligomers being each complementary to at least a primer used in the amplification step; and d) quantitatively measuring the fluorescence of the hybridized amplification product.

(57) Zusammenfassung: Beschrieben ist ein Verfahren zur relativen Quantifizierung der Methylierung von Cytosin Basen in DNA-Proben, wobei man folgende Verfahrensschritte ausführt: a) man setzt eine genomische DNA-Probe mit einem Reagenz chemisch um, wobei 5-Methylcytosin und Cytosin unterschiedlich reagieren und diese somit nach der Reaktion ein unterschiedliches Basenpaarungsverhalten in der DNA Duplex zeigen; b) man amplifiziert die DNA Probe, wobei man ein fluoreszenzmarkiertes dCTP-Derivat zusetzt; c) man hybridisiert die amplifizierte DNA Probe an ein oder mehrere immobilisierte Oligomere, wobei die immobilisierten Oligomere jeweils komplementär zu mindestens einem der im Amplifikationsschritt verwendeten Primer sind; und d) man misst die Fluoreszenz der hybridisierten Amplifikate quantitativ.



WO 01/07647 A2